

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 6 月 4 日現在

機関番号：12601

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2013～2014

課題番号：25560343

研究課題名(和文) 運動による骨格筋肥大の新たなメカニズムの解明

研究課題名(英文) Mechanisms of exercise-induced muscle hypertrophy

研究代表者

小笠原 理紀(Ogasawara, Riki)

東京大学・総合文化研究科・助教

研究者番号：10634602

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,900,000円

研究成果の概要(和文)：骨格筋量調節に関わる細胞外マトリックス構成タンパク質、細胞接着分子、マトリックスメタロプロテアーゼ(MMPs)について、レジスタンス運動(RE)および加齢の影響を検討した。REを繰り返し、タンパク質合成および筋肥大応答が停滞したラット骨格筋において、インテグリン発現量の増加と一過性REに対するMMP-2, 9活性化応答の低下が観察された。高齢男性の骨格筋において若年男性に比べてインテグリン発現量が多く、MMP-2, 9の活性が低下していることがわかった。これらの結果は、インテグリンとMMPs活性の変化が運動による骨格筋量の調節において重要な役割を果たしている可能性を示唆する。

研究成果の概要(英文)：The purpose of the study was to investigate the effect of resistance exercise and aging on extracellular matrix (ECM) related proteins. Resistance exercise activates MMP-2 and MMP-9 during initial phase of resistance training but this response is attenuated with continuation of resistance training in rats. Resistance training increased α 1-integrin (cell adhesion molecule) expression but not the other ECM proteins. Increases in integrins (α 7- and α 1-integrin) and reduced MMPs activities were also observed in older men compared with young men. These results suggest that integrins and MMPs play important role in the exercise-induced muscle hypertrophy.

研究分野：運動生理学

キーワード：運動 骨格筋 細胞外マトリックス マトリックスメタロプロテアーゼ 細胞接着分子 インテグリン
筋肥大 シグナル伝達

1. 研究開始当初の背景

サルコペニア(加齢に伴う筋量・筋機能の低下)や生活習慣病の予防・改善、さらには積極的な健康増進の観点から、運動(レジスタンストレーニング)による筋量の維持・増加が重要であることは明白である。しかし、運動による骨格筋量調節のメカニズムについては十分に解明されていない。

骨格筋の細胞外マトリックス(ECM)は、骨格筋の構造維持のための静的な役割のみならず、骨格筋量の調節に関与する細胞内シグナル伝達などの動的な制御にも積極的に関与していること、また、力の発揮や柔軟性などの機能的側面に対しても重要な役割を果たしていることが近年次々と明らかにされている。特に、細胞接着分子(インテグリンやジストロフィンなど)や基底膜構成成分(4型コラーゲンやラミニンなど)はmTORC1(mammalian target of rapamycin complex 1, タンパク質合成過程における翻訳段階の調節に関わり、その活性化が筋肥大を引き起こすために重要なことが知られている)シグナルを含む同化シグナルに影響を及ぼし、骨格筋量の調節に密接に関与していることがわかってきている。興味深いことに、ECMの変化は筋ジストロフィーなどの疾患で変化が観察されるばかりでなく、加齢や身体活動量の低下によっても大きく変化することが知られ、ECMの変化が加齢や身体活動量の低下による骨格筋量・機能の低下に関与していると考えられている。

一方、ECMにはマトリックスメタロプロテアーゼ(MMPs)と呼ばれ、ECMの構成成分を分解することでECMの代謝を司るタンパク質分解酵素が存在する。MMPsには多くのサブタイプが知られているが、その中でMMP-2とMMP-9は主に基底膜の構成成分である4型コラーゲンを分解する酵素として知られている。詳細なメカニズムは明らかではないが、最近MMP-9を慢性的に活性化もしくは不活性化させたモデル動物において筋肥大や筋萎縮、筋線維組成の変化が報告されている。このことは、MMP-9の活性化が直接もしくは4型コラーゲンの分解などのECM構成成分のリモデリングを介して筋タンパク質代謝を調節し、筋量の調節に関与している可能性を示唆する。MMPsの発現は機械的・代謝的ストレスの影響を強く受けることが知られており、運動(特にレジスタンス運動)によってMMPsが活性化され、直接もしくはECMのリモデリングを介して骨格筋量の調節に関与している可能性が考えられる。しかし、レジスタンス運動によるMMPsの活性化やECMへの影響は不明な点が多い。

2. 研究の目的

本研究では、

- (1) レジスタンス運動によるMMP-9活性化と筋タンパク質同化応答の関係について検討すること
- (2) レジスタンス運動の繰り返し(トレーニング)や加齢に伴う運動刺激に対するタンパク質合成・筋肥大応答の低下(同化抵抗性)とMMP-9活性・ECM関連因子の関係性について検討すること

を目的とした。

3. 研究の方法

【実験1】実験動物(Sprague-Dawley系雄ラット)をmTORC1阻害剤であるrapamycinを投与する群、MMP阻害剤を投与する群、プラセボ群に分けた。それぞれ電気刺激による等尺性収縮(動物実験におけるレジスタンス運動モデル)1.6時間後に骨格筋を採取し、mTORC1シグナルを中心としたシグナル因子とタンパク質合成速度の測定を行った。

【実験2】実験1と同様の実験動物モデルを用いて18回のトレーニングを実施し、その前後でMMP-9活性とECM関連因子の測定を行った。

【実験3】高齢男性(60-81歳)8名と若年男性(20-25歳)8名の安静時における骨格筋を採取した。また、高齢男性においては12週間のレジスタンストレーニング(70%1RM, 10回×3セット、週3回)を実施し、トレーニング終了後の安静時にも骨格筋を採取した。それぞれMMP-9とECM関連因子の測定を行った。

4. 研究成果

【実験1】レジスタンス運動は活性化MMP-9を増加させた。しかし、その増加はmTORC1阻害剤の投与によって一部抑制された。一方、MMP阻害剤の投与によって筋収縮6時間後のmTORC1はより活性化し、筋タンパク質合成速度もプラセボ群に比べ増加した(図1)。

以上から、(1)レジスタンス運動は活性化MMP-9を増加させること、(2)レジスタンス運動によるmTORC1活性化は活性化MMP-9の増加に関与していること、が示唆された。しかし予想とは異なり、(3)MMP-9活性自体はmTORC1活性およびタンパク質合成速度を負に制御している可能性が示唆された。したがって、先行研究におけるMMP-9活性と骨格筋量における正の関係性は、MMP-9によるタンパク質代謝を介した直接的なものではなく、ECMのリモデリングなどを介した間接的なものである可能性

が考えられる。

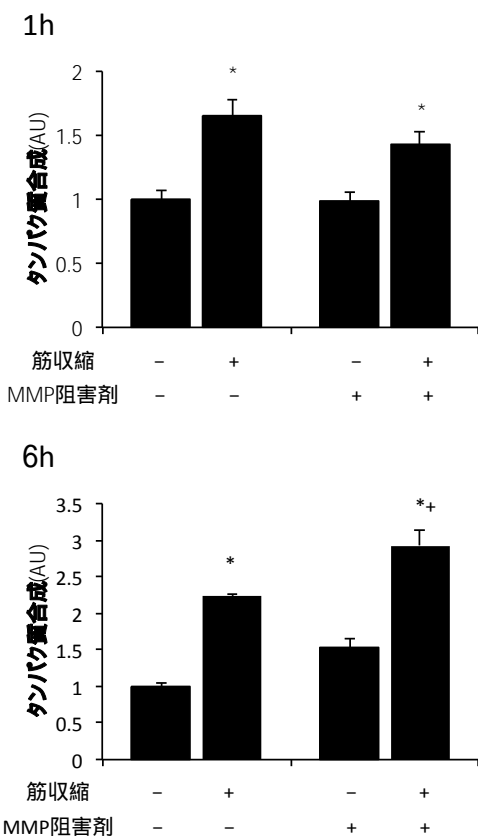


図 1. 筋タンパク質合成に及ぼす急性レジスタンス運動と MMP 活性の影響. * $p < 0.05$ vs. 筋収縮なし, + $p < 0.05$ vs. 筋収縮あり阻害剤なし

【実験 2】活性化 MMP-9 は初回運動後には増加したが、トレーニング終了後には増加が観察されなかった。一方、レジスタンストレーニングによって基底膜構成成分である 4 型コラーゲンとラミニンのタンパク質発現量に変化は観察されなかったものの、細胞接着分子である $\beta 1$ インテグリンのタンパク質発現量が増加した。 $\alpha 7\beta 1$ インテグリンの増加は機械的ストレスに対する耐性を高めるものの、その分、相対的に同一な機械的ストレスに対する mTORC1 の応答性が低下することが知られている。

以上から、(1)レジスタンス運動を繰り返すこと(トレーニング)によって MMP-9 の活性化応答が低下し、ECM のリモデリングが低下すること、(2) $\beta 1$ インテグリンの増加によって骨格筋の機械的ストレスに対する耐性が高まること、が示唆された。

【実験 3】MMP-9 タンパク質発現量は高齢者と若年者の間に差は見られなかったものの、高齢者の骨格筋では若年者と比べて TIMP-1 (MMPs の抑制因子)のタンパク質発

現量が多かった。 $\alpha 7$ インテグリン、 $\beta 1$ インテグリンはともに高齢者で若年者に比べてタンパク質発現量が多かった(図 2)。インテグリンの下流にあるシグナル因子である FAK(focal adhesion kinase)のリン酸化レベルは、高齢者において若年者と比べて低かった。

高齢者におけるレジスタンストレーニングは、骨格筋サイズ(大腿部筋横断面積)と筋力を増加させた。しかし、 $\beta 1$ インテグリンのタンパク質発現量を低下させたものの、MMP-9、TIMP-1、 $\alpha 7$ インテグリンに変化は見られなかった。

以上から、(1)高齢者では MMP-9 活性が低下し(MMP-9/TIMP-1 が低下)、ECM のリモデリングが低下していること、(2)なんらかのストレスによって $\alpha 7\beta 1$ インテグリンの発現量が増加していること、が示唆された。一方、(3)高齢者における 12 週間のレジスタンストレーニングが MMPs 活性や $\alpha 7\beta 1$ インテグリン発現量に及ぼす影響は、非常に少ない可能性が示唆された。

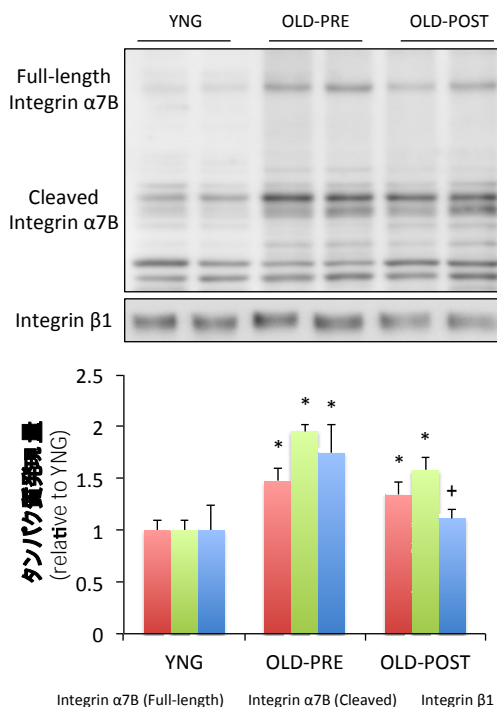


図 2. $\alpha 7\beta 1$ インテグリン発現量に及ぼす加齢とレジスタンストレーニングの影響. YNG: 若年者, OLD-PRE: 高齢者トレーニング前, OLD-POST: 高齢者トレーニング後. * $p < 0.05$ vs. YNG, + $p < 0.05$ vs. OLD-PRE

以上、本研究より同化抵抗性の発現に MMPs 活性の低下や $\alpha 7\beta 1$ インテグリン発現量の増加が関与している可能性が示唆された。今後はこれらの変化を軽減もしくは阻止

することができる方法論の検討、また、それによって同化抵抗性が改善されるのか検討していく必要がある。

5 . 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計1件)

Ogasawara R, Nakazato K, Sato K, Boppart MD, Fujita S. Resistance exercise increases active MMP and β 1-integrin protein expression in skeletal muscle. Physiological Reports, article ID e12212, 2014 査読有
doi: 10.14814/phy2.12212.

[学会発表](計1件)

Ogasawara R, Sato K, Matsutani K, Hamaoka T, Boppart MD, Fujita S. The effect of age and resistance training on α 7 β 1 integrin expression and activation in human skeletal muscle. 62th The American College of Sports Medicine Annual Meeting, May 28, 2015, San Diego (USA)

6 . 研究組織

(1)研究代表者

小笠原 理紀 (OGASAWARA, Riki)
東京大学・大学院総合文化研究科・助教
研究者番号：10634602

(2)連携研究者

藤田 聡 (FUJITA Satoshi)
立命館大学・スポーツ健康科学部・教授
研究者番号：80451863

(3) 連携研究者

中里 浩一 (NAKAZATO Koichi)
日本体育大学・保健医療学部・教授
研究者番号：00307993

(4) 連携研究者

佐藤 幸治 (SATO Koji)
立命館大学・スポーツ健康科学部・助教
研究者番号：20584022